

MEDyC, le 25 novembre 2015

Simulation par dynamique moléculaire de membranes lipidiques complexes

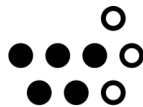
Jean-Marc Crowet¹, Manuel Dauchez², Laurence Lins¹

1 Laboratoire de Biophysique Moléculaire aux Interfaces, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Belgique

2 Plate-forme de Modélisation Moléculaire Multi-échelle, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Université de Reims Champagne-Ardenne, France



UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Gembloux Agro-Bio Tech



Wallonie - Bruxelles
International.be



Bourse de mobilité entrante de courte durée de l'URCA (REGIS)
IAP/Belspo P7/44 project : Integrative Protein Science (iPROS)
Bourse d'excellence Wallonie Bruxelles International (WBI)

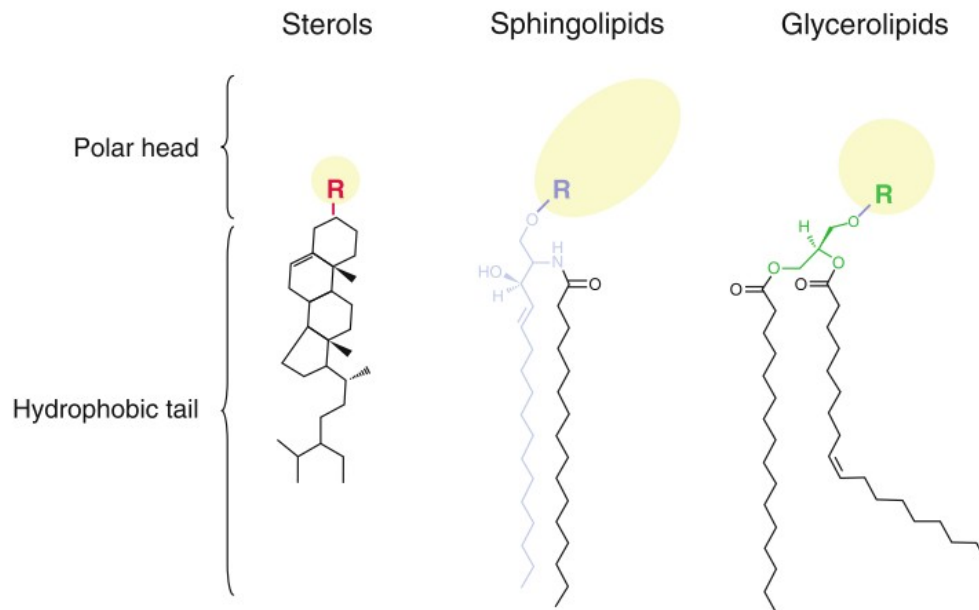


La modélisation des membranes et des interactions membranaires dans un contexte biologique tend vers une description plus précise

- Les membranes sont des structures complexes qui assurent différentes fonctions
- L'activité des biomolécules dépend de cette complexité
- La dynamique moléculaire des membranes se réduit généralement à 1 ou 2 lipides
- La situation est en train de changer, via :
 - Le développement de la lipidomique (quantitative)
 - La paramétrisation des champs de force et des topologies lipidiques
 - Le développement d'outils spécifiques
 - L'augmentation des puissances de calcul et donc des échelles de temps et de tailles simulées
- Ceux-ci donnent accès à la simulation de phénomènes comme la formation de domaines, le partitionnement, l'affinité lipidique, ...

La diversité lipidique est très importante

- Les membranes cellulaires sont composées de trois principales classes de lipides, représentant jusqu'à 100k espèces moléculaires
- La lipidomique, via les développements expérimentaux notamment de spectrométrie de masse vise à leur identification et quantification
 - Le consortium LIPID MAPS en a identifié plus de 40k



Furt *et al* 2011

Number of lipids per category

Fatty acyls	6954
Glycerolipids	7542
Glycerophospholipids	9387
Sphingolipids	4352
Sterol lipids	2833
Prenol lipids	1257
Saccharolipids	1293
Polyketides	6742
TOTAL	40,360 structures

<http://www.lipidmaps.org/data/structure/index.html>

le 16/11/2015

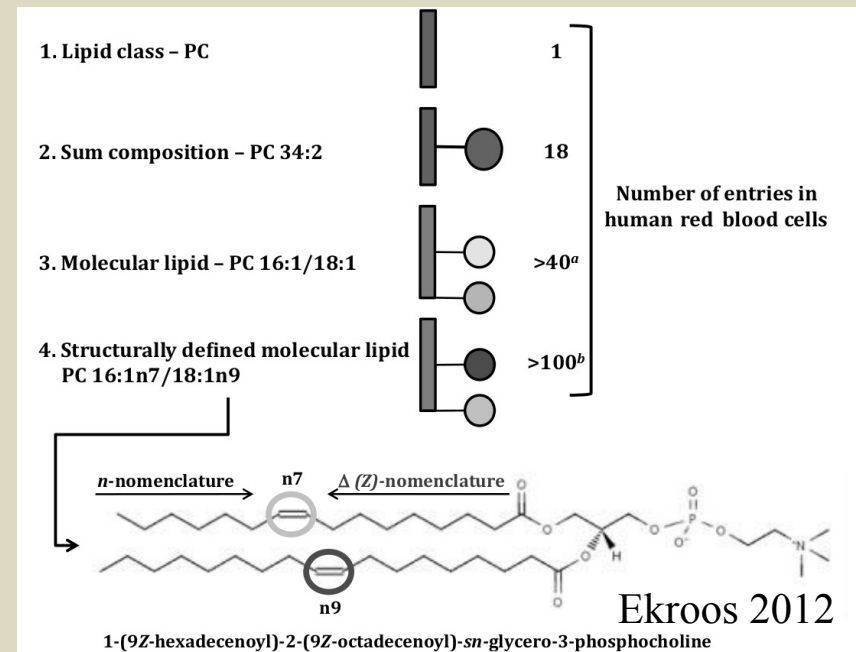
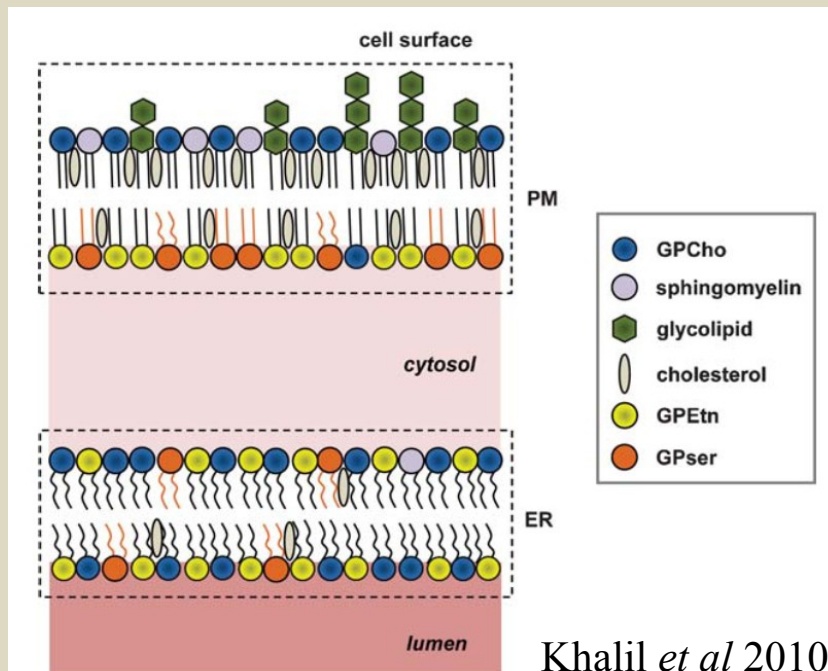
Et les compositions lipidiques sont très variables

La composition lipidique varie entre organismes et organites mais aussi au sein d'une même bicouche (domaines) et entre les couches (asymétrie)

Les informations lipidomiques sont également variables

Détails de la description des lipides

Classes de lipides récupérées lors de l'extraction



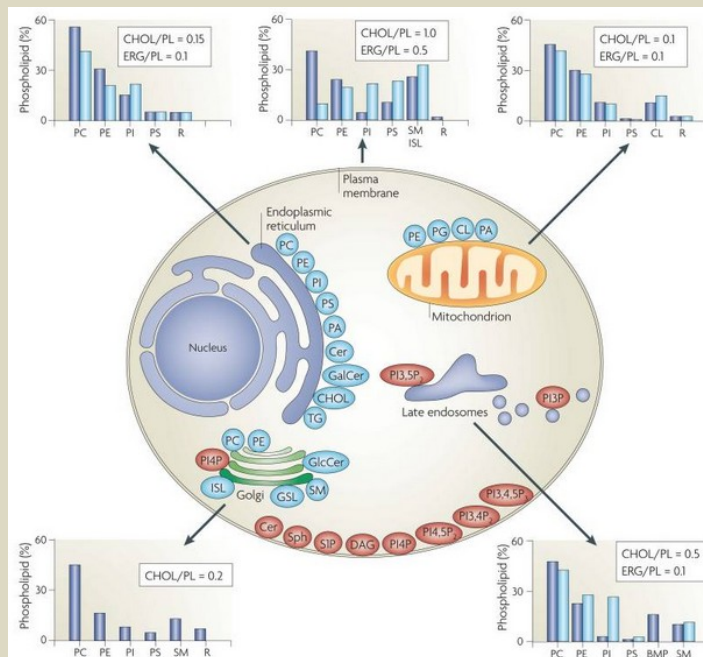
Le lipidome subcellulaire du macrophage mammifère

Cette étude fournit le profil lipidique et la composition quantitative

TABLE 1. Overview of the subcellular lipidome

Lipid Categories	Nuclei	Mitochondria	ER	Plasmalemma	Dense Microsomes	Cytosol	Whole Cell
Glycerophospholipids	149	152	150	151	142	109	155
Prenol lipids	5	5	5	5	5	5	5
Sphingolipids	48	47	48	48	48	47	48
Sterol lipids	13	12	12	13	11	5	12
Total	215	216	215	217	206	166	220

Andreyev *et al* 2010



Van Meer *et al* 2008

Acyl chains	Phospholipid Subclasses							
	PA	PS	PC	PE	PG	PC(P-)	PE(P-)*	PI
(28:0)			180					
(30:0)	65							
(30:1)	100							
(32:0)	390		1100	740	52		1400	
(32:1)	77		2900		85			
(32:2)			560					
(32:4)	0							
(34:0)	290	49	2000	1200	140			
(34:1)	230	18	2400	3500	790			26
(34:2)	39	110	1300	1300	360			7.2
(34:3)			64		0			
(36:0)	85	2000	990	2000			13	8.5
(36:1)	230	460	6100	5400	2600	930	0	51
(36:2)	220	86	6800	3600	4400	220	0	84
(36:3)	0		850	1300	1300	0	160	11
(36:4)		67	400	120	0	1700	180	12
(36:5)								20
(38:0)			5000	1500			280	
(38:1)	23	63	570	900	490		140	0.03
(38:2)	81	68	1800	1400	3500		1300	28
(38:3)	79	130		4500	3400			120
(38:4)	50	250	1000	5700	1700	400	1700	120
(38:5)	110	110	1200	3100	570			28
(38:6)			2800	520				5.8
(40:0)	0	68						
(40:1)	2.7	39	1300					
(40:2)		17	410		200			
(40:3)	140	49			490			7.2
(40:4)	150	44	0	1300	550			6.7
(40:5)		110		2200	590			7.4
(40:6)	0	150	0	2400	900			7.9
(40:7)			1200		1200			6.5
(40:8)					150			
(42:0)		32						
(42:1)		68	2300					
(42:2)		84	2300					
(42:3)		98						
(42:4)		160						

Andreyev *et al* 2010

La disponibilité des topologies lipidiques est variable en fonction du champ de force

La plupart décrivent les têtes polaires PC, PE et chol avec les acides gras L, M, P, O et pour certains de la PG, PS, SM, CL ou PIP2

Lipid molecules for which MD parameters are accessible, depending on the forcefield.

Forcefield	Lipids
CHARMM36	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC, SDPC, DAPC, POPE, Chol
GAFF (AMBER)	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC, POPE
Slipids (AMBER)	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, SOPC, DOPC, DLPE, DPPE, POPE, DOPE, DLPG, DMPG, DPPG, POPG, DSPG, DOPG, DOPS, SM, Chol
Berger lipids (Gromos)	DMPC, PLPC, DPPC, POPC, DOPC, POPE, SM, Chol
Gromos 43A1-S3	DLPC, DMPC, DPPC, DOPC, POPE, SM, Chol
Gromos 53A6 CKP	POPC, DMPG, POPG, DPPE, POPE, CL, lipid A, PIP2
Gromos 53A6 kukol	DMPC, DPPC, POPC, POPG
Gromos 53A6 Poger	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC
OPLS	DPPC, POPC
Martini	DHPC, DLPC, DPPC, POPC, DSPC, DOPC, DAPC, DUPC, DHPE, DLPE, DPPE, POPE, DSPE, DOPE, POPG, DOPG, POPS, DOPS, SM, CL, Chol

Deleu *et al.* 2014

Ces topologies peuvent être récupérées sur des bases de données et des sites dédiés

ATB, Lipidbook, Martini, charmm-gui, ...

La disponibilité des topologies lipidiques est variable en fonction du champ de force

La plupart décrivent les têtes polaires PC, PE et chol avec les acides gras L, M, P, O et pour certains de la PG, PS, SM, CL ou PIP2

Lipid molecules for which MD parameters are accessible, depending on the forcefield.

Forcefield	Lipids
CHARMM36	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC, SDPC, DAPC, POPE, Chol
GAFF (AMBER)	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC, POPE
Slipids (AMBER)	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, SOPC, DOPC, DLPE, DPPE, POPE, DOPE, DLPG, DMPG, DPPG, POPG, DSPG, DOPG, DOPS, SM, Chol
Berger lipids (Gromos)	DMPC, PLPC, DPPC, POPC, DOPC, POPE, SM, Chol
Gromos 43A1-S3	DLPC, DMPC, DPPC, DOPC, POPE, SM, Chol
Gromos 53A6 CKP	POPC, DMPG, POPG, DPPE, POPE, CL, lipid A, PIP2
Gromos 53A6 kukol	DMPC, DPPC, POPC, POPG
Gromos 53A6 Poger	DLPC, DMPC, DPPC, POPC, DOPC
OPLS	DPPC, POPC
Martini	DHPC, DLPC, DPPC, POPC, DSPC, DOPC, DAPC, DUPC, DHPE, DLPE, DPPE, POPE, DSPE, DOPE, POPG, DOPG, POPS, DOPS, SM, CL, Chol

Deleu *et al.* 2014

... mais la situation est entrain de changer avec Charmm et Martini

Table 1. Lipid classification and the number of lipid types in *Membrane Builder*.

Classification	Sterols	PA lipids	PC lipids	PE lipids	PG lipids	PS lipids
# lipid types	2	14	14	16	14	14
Classification	PI lipids	CL lipids	PUFA lipids	SM lipids	Bacterial lipids	
# lipid types	46	23	15	15	9	

Wu *et al.* 2014

Lipid classification and the number of lipids in Martini

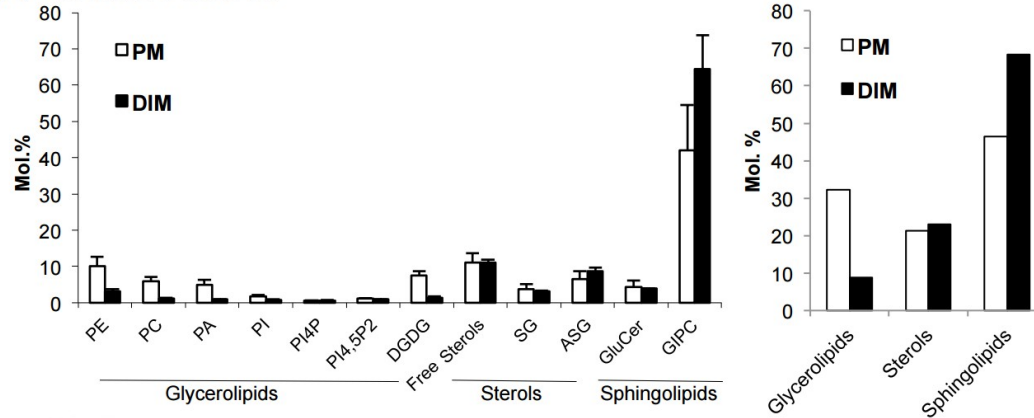
Classification	PC lipids	PG lipids	PE lipids	PS lipids	Glycoglycero lipids	Other glycerolipids
# lipid types	22	23	23	23	11	15
Classification	PI lipids	CL lipids	PA lipids	SM lipids	Sterols	Glycosphingo lipids
# lipid types	14	3	21	9	3	11

Martini website (<http://cgmartini.nl/>)

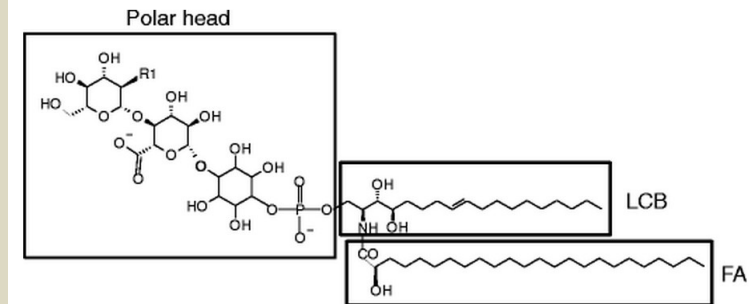
De nombreux lipides importants ne sont pas encore disponibles

Les GIPC représentent jusqu'à 40 % de la PM des plantes

A Tobacco leaves



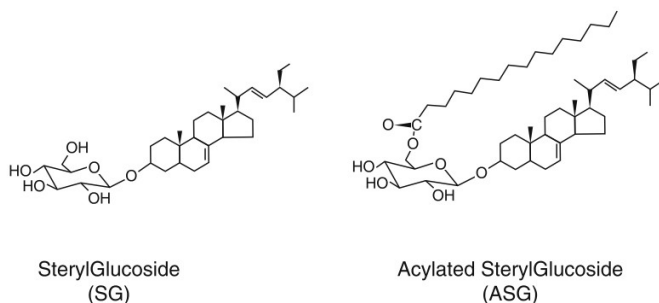
Cacas et al. 2015



	sphinganine (dihydrosphingosine)	d18:0	Plants Animal
	(E)-sphing-4-enine (sphingosine)	d18:1 ^{4E}	
	(E)-sphing-8-enine	d18:1 ^{8E}	Plants
	(Z)-sphing-8-enine	d18:1 ^{8Z}	Plants
	(4E,8E)-sphinga-4,8-dienine	d18:2 ^{4E,8E}	Plants
	(4E,8Z)-sphinga-4,8-dienine	d18:2 ^{4E,8Z}	Plants
	4-hydroxysphinganine (phytosphingosine)	t18:0	Plants Yeast
	(E)-4-hydroxysphing-8-enine	t18:1 ^{8E}	Plants
	(Z)-4-hydroxysphing-8-enine	t18:1 ^{8Z}	Plants

Major species in plants:

Les stérols sont plus diversifiés



Furt et al. 2011

La construction des membranes par modélisation moléculaire

■ Les membranes peuvent être construites par :

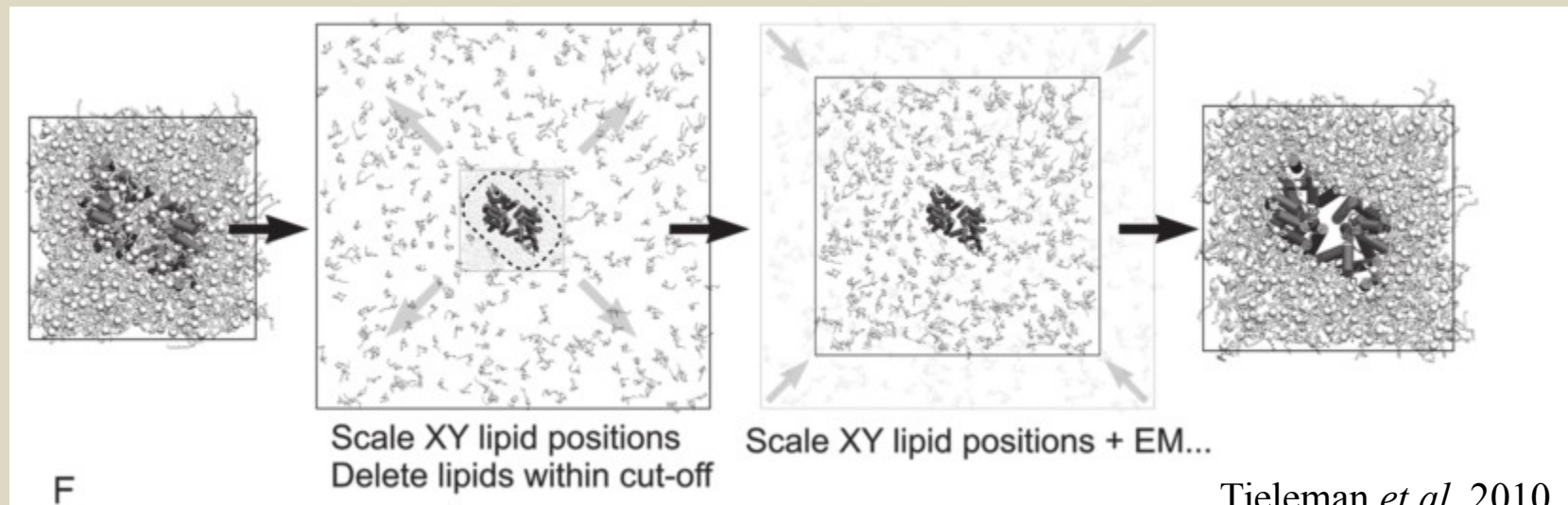
Assemblage de lipides rigides, disposition sur une grille, auto-assemblage

■ L'équilibration peut prendre 10-100ns pour une petite membrane avec 1 lipide

100 à 1000ns si il y a plusieurs lipides et d'autant plus si la membrane est grande

■ Réutilisation de structure membranaires pré-équilibrées

■ Les mêmes approches peuvent être utilisées pour insérer une protéine



Les champs de force gros grain

- La dynamique moléculaire gros grains (CG) utilise des particules qui représentent plusieurs atomes

- Échelles de temps et d'espace des simulations plus grandes

ex: 1 peptide + 126 lipides + eau : AT => ~25000 atomes; 30 j/cpu pour 50ns

CG => ~3000 particules; 8 h/cpu pour 50ns

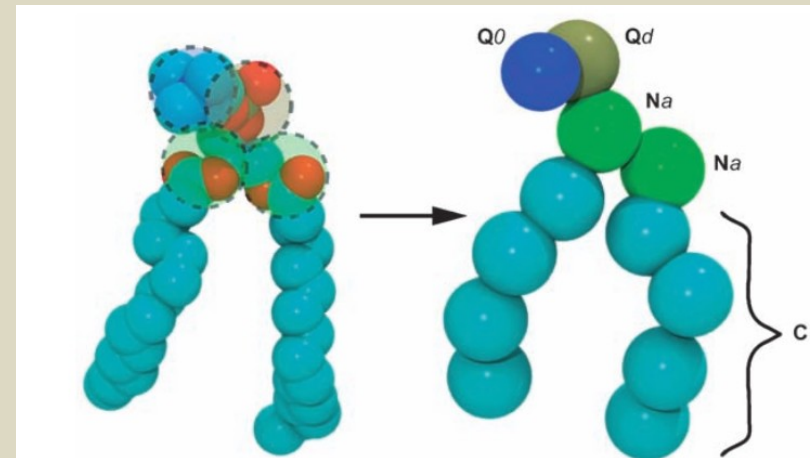
- Permet de simuler des phénomènes hors d'atteinte de la dynamique moléculaire atomistique (AT)

la fusion membranaire, l'oligomérisation
des protéines membranaire, ...

- MARTINI

protéines, lipides (PC, PE, Chol, ...), sucres,

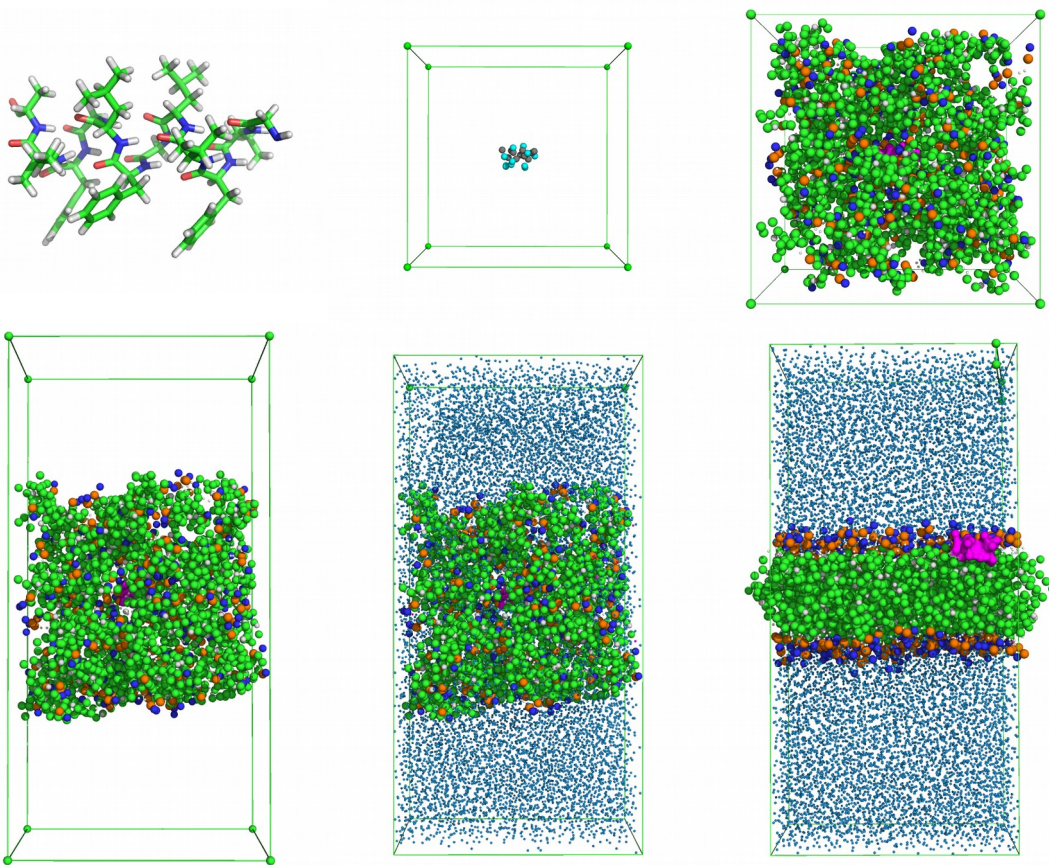
...



Formation de bicouches par auto assemblage

Méthodologie

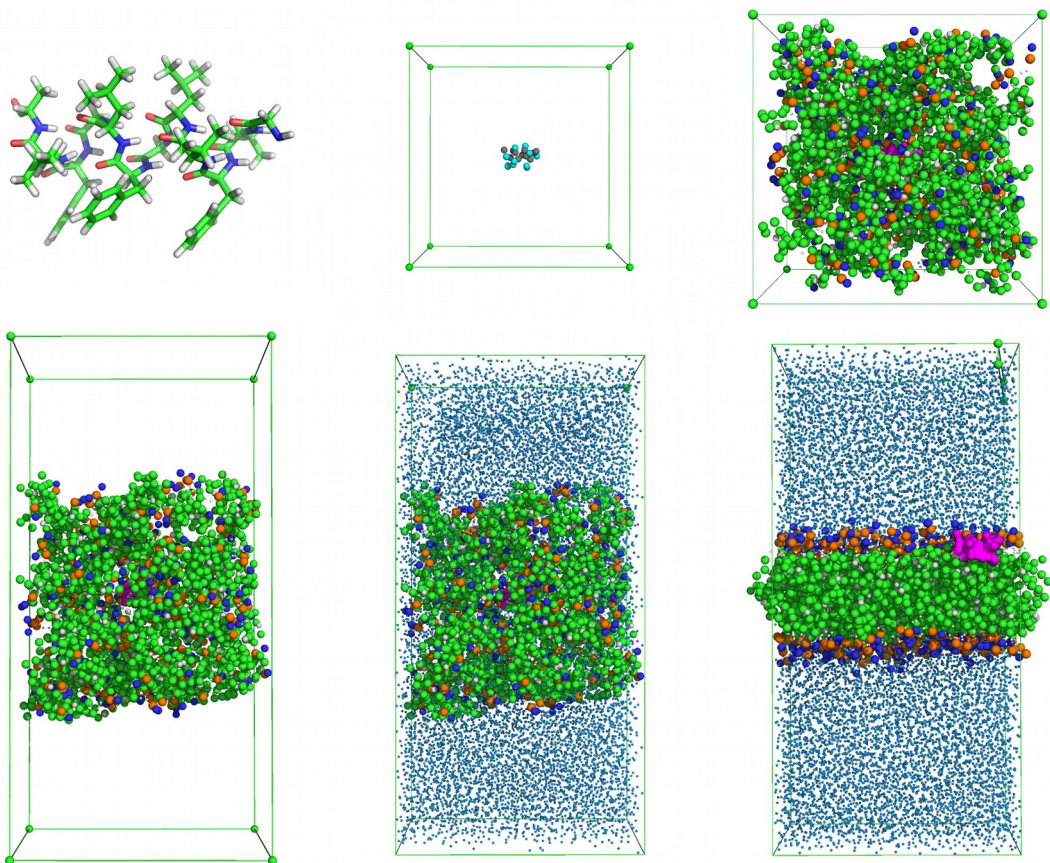
Bond et al. 2006, Hall et al. 2011



Formation de bicouches par auto assemblément

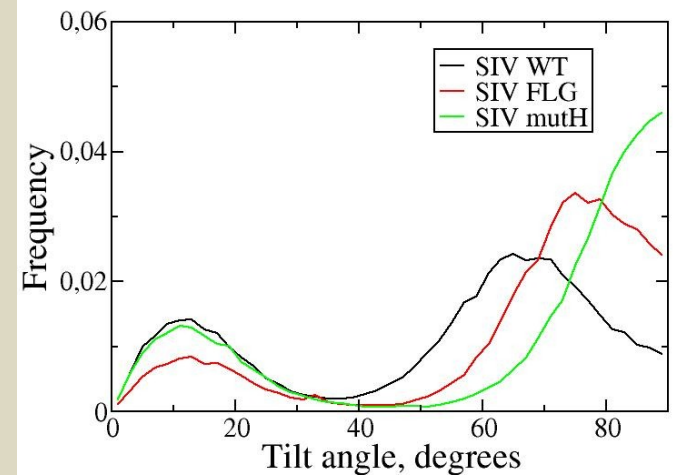
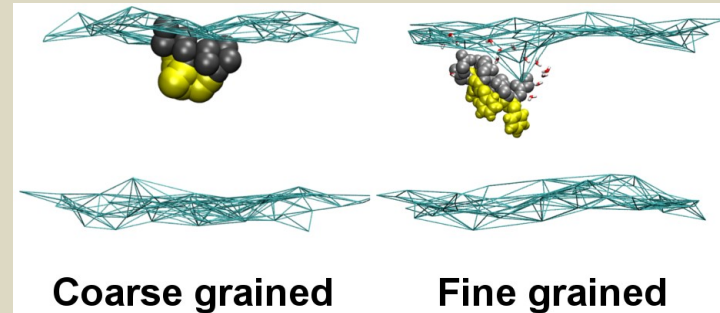
Méthodologie

Bond *et al.* 2006, Hall *et al.* 2011



Application au peptide de fusion du SIV

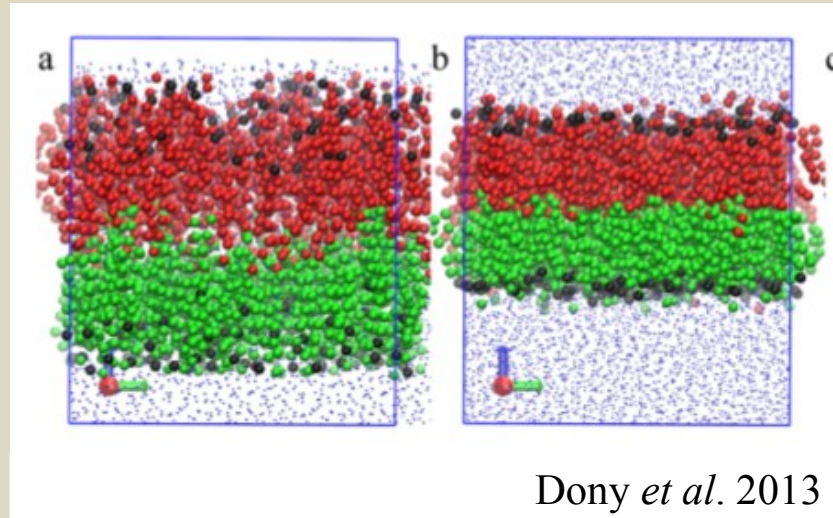
Crowet *et al.* 2012



La construction de systèmes complexes

- Le cas des protéines avec un domaine extra membranaire
- Asymétrie et compositions membranaires
- Modification de l'outil genbox de Gromacs pour insérer facilement les lipides

Boîte d'insertion (iBox), de translation (tBox) et de rotation (norot)

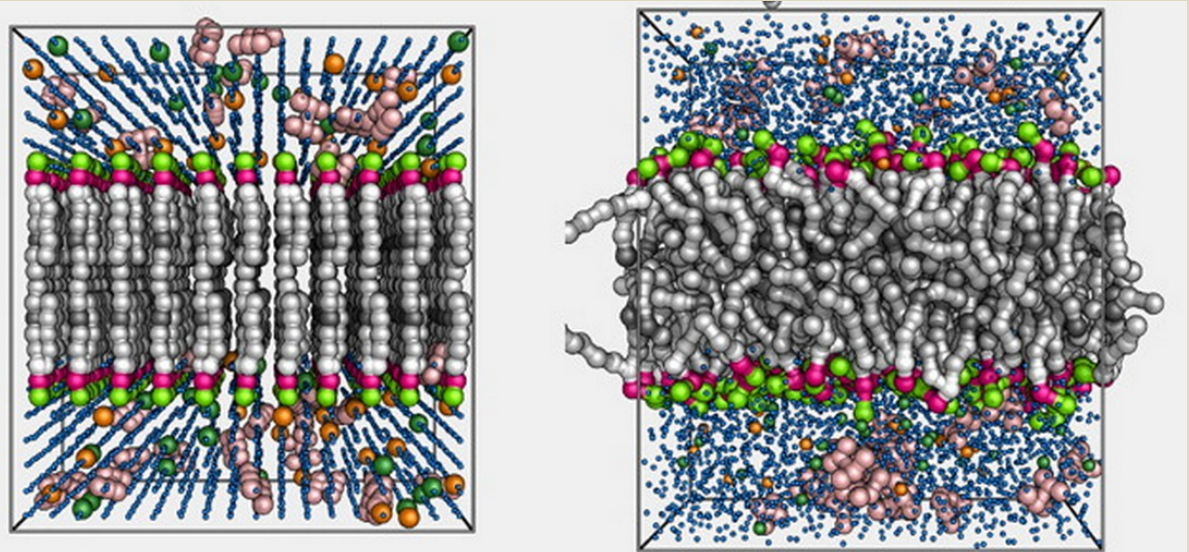


La construction de systèmes complexes

- Le cas des protéines avec un domaine extra membranaire
- Asymétrie et compositions membranaires
- Modification de l'outil genbox de Gromacs pour insérer facilement les lipides

Boite d'insertion (iBox), de translation (tBox) et de rotation (norot)

- Les outils Insane et Backwards



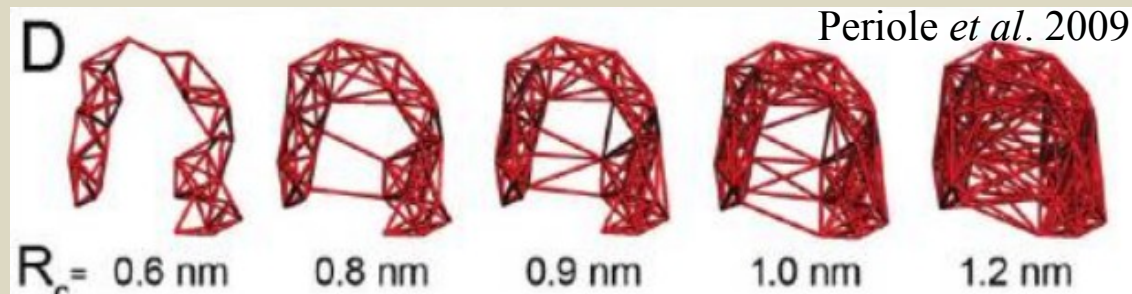
Wassenaar *et al.* 2015

Les structures protéiques doivent être maintenues

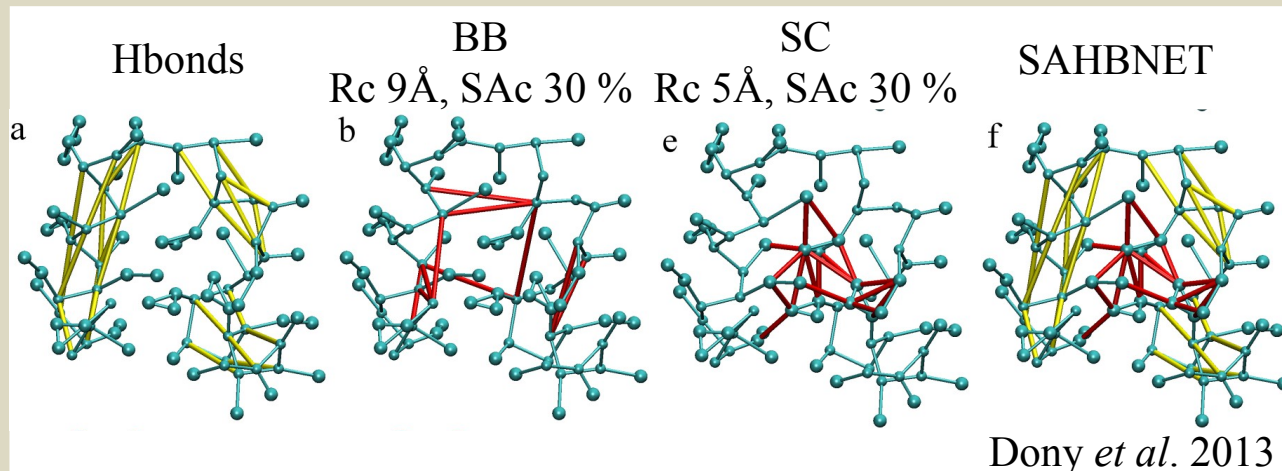
- Utilisation de ELNEDYN ou SAHBNET

- Permet de préserver la structure 3D de la protéine et sa flexibilité

- ELNEDYN utilise un réseau élastique basé sur un cut-off

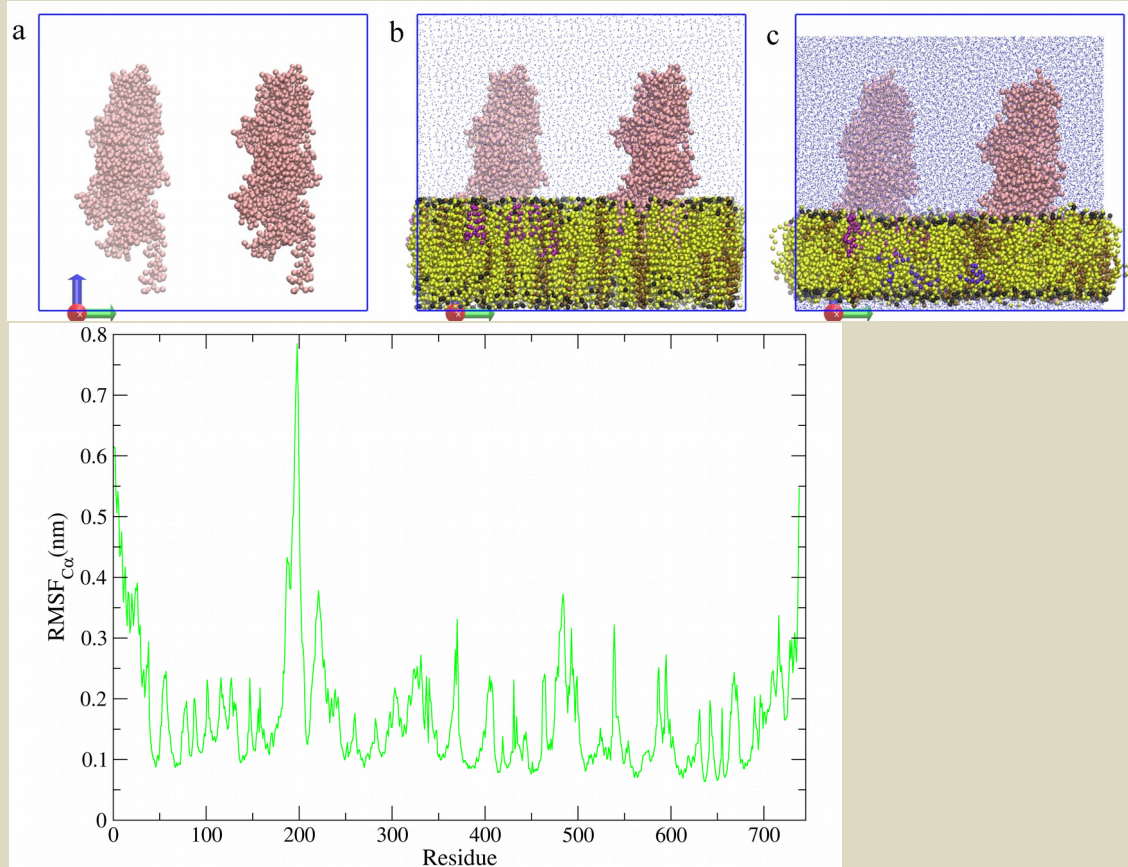
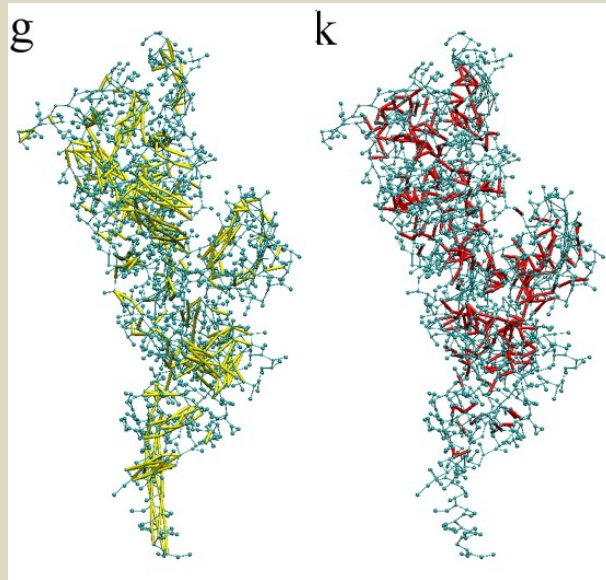


- SAHBNET utilise un réseau élastique basé sur les ponts H et sur la surface accessible



Application de SAHBNET à l'insertion de protéines membranaires

■ Insertion de PBP1b, protéine membranaire monotopique de *E. coli*
3FWM ; 738 résidus ; 453 hbonds ; 345 SA (SAc = 30 % et Rc = 0.5nm)
ELNEDYN = 3428



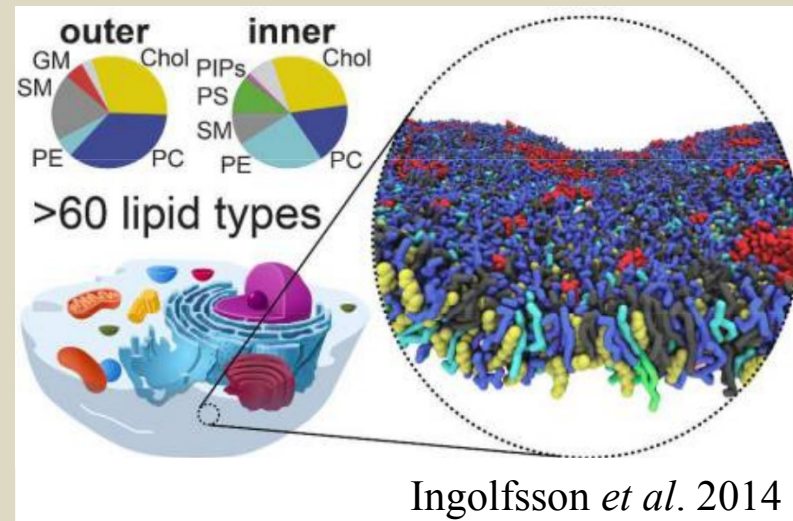
Premières simulations visant à reproduire la complexité lipidique

La composition a été déterminée à partir de plusieurs sources et vise à reproduire une membrane plasmique de mammifère

63 lipides qui combine 14 têtes polaires et 11 chaînes acylées ; composition asymétrique ; simulations de 20000 lipides pendant 40 μ s ; boîte de 71nm

Observation du flip-flop du cholestérol avec un enrichissement du feuillet externe

Observation du mélange hétérogène des lipides avec formation transitoire de domaines



Phosphatidylcholine - PC								Phosphatidylinositol - PI			
POPC	DOPC	PIPC	PEPC	PAPC	DAPC	PUPC		POPI	PIPI	PAPI	PUPI
59 / 122	5 / 11	87 / 179	3 / 7	14 / 29	2 / 4	3 / 7		15 / 0	13 / 0	13 / 0	5 / 0
Phosphatidylethanolamine - PE								Phosphatidic Acid - PA			
POPE	DOPE	PIPE	PQPE	PAPE	DAPE	PUPE	DUPE	POPA	PIPA	PAPA	PUPA
61 / 14	20 / 4	41 / 9	10 / 2	56 / 13	36 / 8	20 / 4	10 / 2	5 / 0	4 / 0	4 / 0	2 / 0
Sphingomyelin - SM								Phosphatidylinositol (1-3)phosphate - PIP			
DPSM	DBSM	DXSM	POSM	PGSM	PNSM	BNSM	XNSM	POP1	POP2	POP3	
30 / 62	7 / 13	12 / 25	2 / 4	2 / 4	19 / 38	9 / 19	13 / 27	5 / 0	5 / 0	5 / 0	
Phosphatidylserine - PS								Ceramide - CER			
POPS	PIPS	PQPS	PAPS	DAPS	PUPS	DUPS		DPCE	DXCE	PNCE	XNCE
21 / 0	8 / 0	4 / 0	49 / 0	2 / 0	19 / 0	2 / 0		2 / 3	1 / 2	1 / 2	1 / 2
Glycolip - monosialotetrahexosylganglioside - GM1								Diacylglycerol - DAG			
DPG1	DXG1	PNG1	XNG1					PODG	PIDG	PADG	PUDG
0 / 9	0 / 5	0 / 6	0 / 5					2 / 3	2 / 2	2 / 2	1 / 1
Glycolip - monosialodihexosylganglioside - GM3								Cholesterol			
DPG3	DXG3	PNG3	XNG3					CHOL			
0 / 9	0 / 5	0 / 6	0 / 5					285 / 313			
Lysophosphatidylcholine - LPC											
PPC	OPC	IPC	APC	UPC							
0 / 6	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 1							

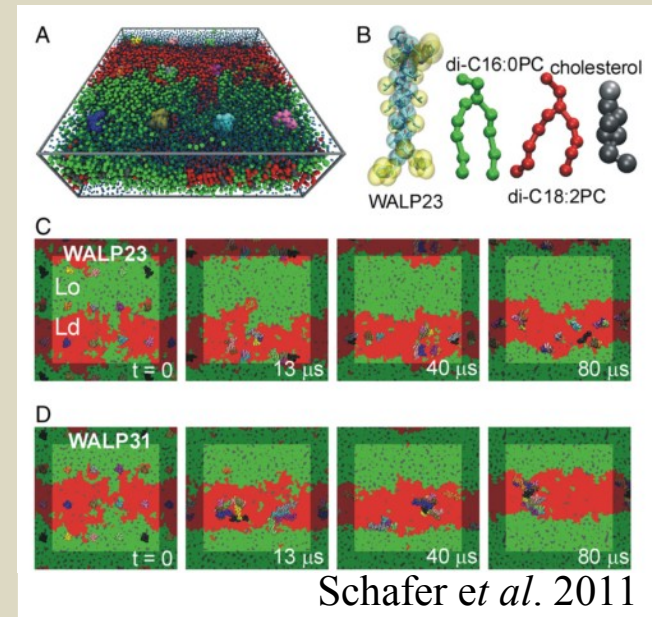
Autres simulations

La membrane du thylakoïde

Tail ↓ Head →	Cyanobacterial membrane				Plant membrane			
	PG	DGDG	MGDG	SQDG	PG	DGDG	MGDG	SQDG
16:0	47.9	43.6	45.1	62.0	15.6	6.7	3.1	49.2
18:0	8.9	2.5	3.9	8.0	0.4	0.6	0.6	2.3
saturated	(50)	(50)	(50)	(80)	(16)	(8)	(6)	(50)
16:1(7)	nd	nd	nd	nd	nd	0.2	0.3	1.4
16:1(9)	10.7	15.1	15.5	3.9	nd	nd	nd	nd
18:1(9)	26.3	28.1	27.9	20.9	nd	1.7	1.1	2.9
18:1(11)	6.2	10.7	7.6	5.2	nd	nd	nd	nd
unsaturated	(50)	(50)	(50)	(20)				
16:1(3t)	nd	nd	nd	nd	46.8	nd	nd	nd
trans-unsaturated					(50)			
16:3(7,10,13)	nd	nd	nd	nd	nd	4.1	13.6	1.0
18:2(9,12)	nd	nd	nd	nd	2.2	2.4	3.1	6.3
18:3(9,12,15)	nd	nd	nd	nd	35.0	84.3	78.2	36.9
poly-unsaturated					(34)	(92)	(94)	(50)
total	6.1	25.6	43.5	24.8	12.6	25.1	40.1	15.2
	(10)	(25)	(40)	(25)	(15)	(30)	(40)	(15)

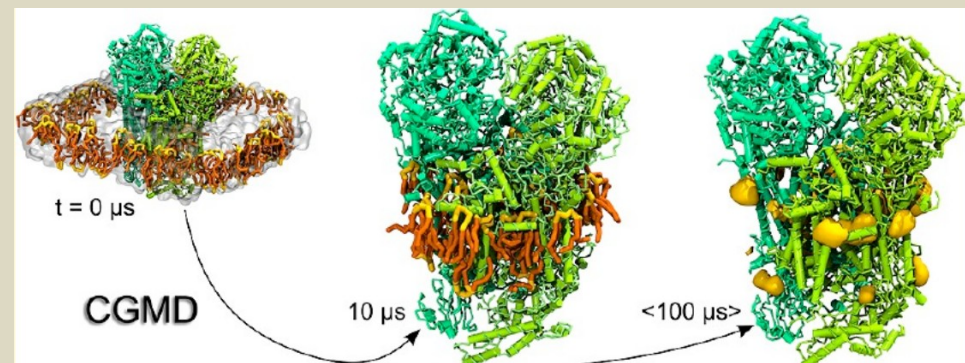
Van Eerden *et al.* 2015

Partitionnement peptidique



Schafer *et al.* 2011

Interactions spécifiques entre cardiolipine et cytochrome c oxydase



Arnarez *et al.* 2013

Thématique s'inscrivant dans le cadre de projets régionaux

« Développement d'une plate-forme de modélisation moléculaire dédiée à la construction de membranes lipidiques complexes et à la caractérisation de leurs interactions avec des molécules bioactives »

- COMANCHE : COmparative Membrane Adapted from Numerical CHaracterizations using Energy
- REGIS : Reims Et Gembloux Innovent par Simulations
- EliDeRham : ELiciteurs DERivés de RHAMnolipides : synthèses, modélisations et activités biologiques
- FIELD : New alternatives to chemical pesticides : deciphering the action mechanism of lipid based plant elicitors via complementary biophysical and biological approaches
- PHYTOBIO : Développement et promotion de nouveaux produits phytosanitaires pour la lutte biologique contre les maladies des plantes
- MAELIA : Etude du mode d'action et de perception d'éliciteurs amphiphiles stimulant l'immunité innée des végétaux

Thématique s'inscrivant dans le cadre de projets régionaux

■ Université de Liège

CGO, LBMI, CWBI, PP

■ Université de Reims
Champagne Ardenne

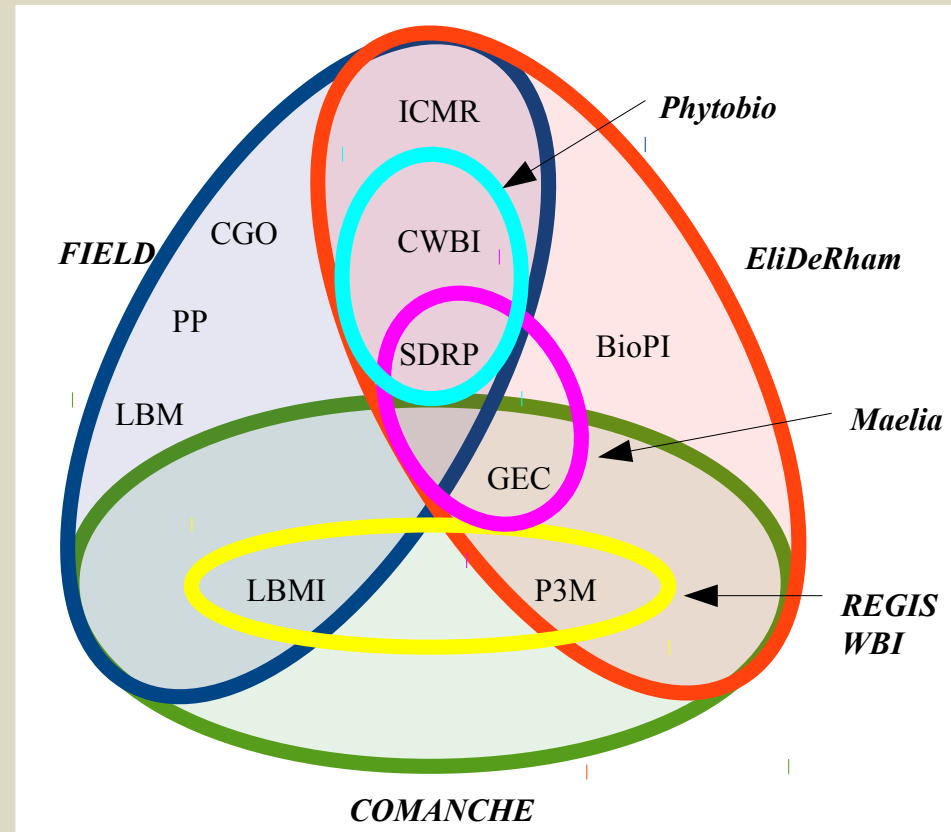
ICMR, P3M, SDRP

■ Université de Picardie Jules Verne

GEC, BioPI

■ Université Bordeaux Segalen

LBM



Objectifs des efforts de modélisation

- Rassembler des équipes spécialisées dans les techniques de modélisation

 - Synergie via le partage de compétences, méthodologies et outils

 - Mise à disposition de la communauté universitaire via P3M

- Développement d'un outil de construction et de comparaison de membranes lipidiques modèles d'origine végétale et animale au travers d'une interface web

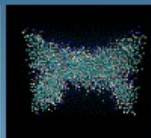
 - Proposer des membranes modèles pour différents organismes et organes

 - Avec une construction automatisée et l'utilisation d'une base de données lipidique

 - Évaluer l'interaction de molécules amphiphiles en se focalisant sur la composition

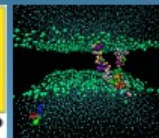
 - Améliorer la modélisation des membranes végétales qui reste peu documentées

Version actuelle du site web



CBMN

Centre de Biophysique
Moléculaire Numérique



This site is still in construction and is a alfa version !!!!!!!!

Menu

User:
jmcrowet!

CBMN Website

CBMN Peplook
Website

CIP Website

E-GCGS Home

Change mail

Change pswd

Logout

Membrane
preparation

Protein insertion

Jobs

Workflow

Help

Downloads

E-GCGS Custom

System options ?

Name ?

Size ?

System options ?

X (nm)	Y (nm)	Z (nm)	Z (nm)	NbWater	NbLipids	Temperature (°K)	[NaCl] (M)	EQRuntime (ps)	Runtime (ns)	DT (ps)	Nb of run
10	10	5	10	auto	auto	297	0.1	1000	1500	0.02	1

Proteins ?

Name	Sequence SSD	Nb	Orientation against Z axis	Insertions Spots Ex: (5,5,5) (2,3,6)	Pos & Struc Rest	PDB (Optional)	SSD (Optional)
prot1	<input type="text"/>	1	Parallel ▼	auto	EM EQ EQRUN RUN PRest <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="text"/> Upload	<input type="text"/> Upload

Lipids ?

Name	% top leaflet	% bottom leaflet
DMPC ▼	100	100

you can select these options

Options	
RANDHS ?	<input type="checkbox"/> 1 ?
Forcefield	martini21 ▼

Submit